



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA CANINA

Abordagem Terapêutica

Filipa Farate Sá

Coimbra, Junho 2014



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA CANINA

Abordagem Terapêutica

Coimbra, Junho de 2014

Autor

Filipa Farate Sá

Aluna do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Orientador e Co- orientador

Prof. Dra. Maria João Vieira e Dr. Hugo Vilhena

Orientador Externo

Prof. Dr. Nuno Cardoso

**“Dissertação do Estágio curricular dos ciclos de estudo conducentes ao Grau de Mestre
em Medicina Veterinária da EUVG”**

Resumo

A anemia hemolítica imunomediada (AHIM) é uma das causas de hemólise mais comum em cães e está associada a uma alta taxa de mortalidade. A maioria das mortes ocorre nas primeiras duas semanas de tratamento e estão relacionadas principalmente com complicações tromboembólicas.

O papel dos glucocorticóides está atualmente estabelecido como sendo uma das linhas terapêuticas eficazes e há evidência suficiente que documenta com precisão a associação positiva entre estes fármacos e a sobrevivência. Têm sido descritos vários protocolos de associação de outros imunossuppressores com os glucocorticóides, principalmente em casos com maus indicadores de prognóstico à apresentação ou com má resposta à monoterapia com glucocorticóides, mas os resultados obtidos nestes estudos, relativamente à sobrevivência, e à eficácia da terapia têm sido difíceis de comparar. Tal é devido ao tamanho reduzido das populações em estudo, à variedade nos grupos em estudo, ao uso de vários protocolos utilizados e à falta de acompanhamento a longo prazo dos cães. Novos fármacos imunomoduladores têm sido estudados como adjuvantes da terapêutica imunossupressora e apesar dos resultados serem promissores ainda não foi descrita uma correspondente diminuição da taxa de mortalidade. As limitações ao uso corrente destes fármacos prendem-se com o seu elevado custo e com a sua falta de disponibilidade.

É objetivo desta dissertação fazer uma revisão da literatura atual sobre a abordagem terapêutica a esta patologia, iniciando com uma breve introdução sobre os aspetos fundamentais da mesma.

Palavras-chave: Anemia Hemolítica Imunomediada (AHIM); Canina; Primária; Secundária; Terapia.

Abstract

Immune-mediated hemolytic anemia (IMHA), is one of the most common causes of hemolysis in dogs, and is associated with a high mortality rate. Most of the fatalities occur in the first two weeks of treatment, mainly related with thromboembolic complications.

The role of glucocorticoids is established as being one of the most effective therapies and there is enough evidence documenting the positive association between these drugs and survival rates. Several protocols of association of other immunosuppressive drugs and glucocorticoids have been described, mainly in cases with poor prognosis at presentation or with poor response to glucocorticoid therapy. The results obtained in these studies, regarding survival rate and effectiveness, have been difficult to compare, due to the reduced size of the population in study, heterogeneity of the populations, lack of standardized protocols and lack of long term follow-up. New immunomodulatory drugs have been studied as adjuvant therapy for this disease but despite promising results, have failed to improve mortality rates. The main limitations to the current use of these drugs is related with their high cost and lack of availability.

The aim of this study is to make a revision of the current literature about the therapeutic approach to this disease beginning with a brief introduction about the fundamental aspects.

Keywords: Immune-mediated Hemolytic Anemia (IMHA); Canine; Primary; Secondary; Therapy.

Agradecimentos

A realização desta dissertação não teria sido possível sem a ajuda e apoio de algumas pessoas, a quem quero deixar o meu agradecimento.

Desde já quero agradecer aos meus orientadores internos, Prof. Dra. Maria João Vieira e Dr. Hugo Vilhena por toda a ajuda e apoio prestado na elaboração da dissertação. Assim como ao meu orientador externo, Prof. Dr. Nuno Cardoso, por me ter possibilitado a realização do estágio curricular, pela disponibilidade na transmissão de conhecimentos e pela integração na equipa. Não posso deixar de agradecer ao restante corpo clínico do Centro Veterinário Conimbricense por todo o carinho e apoio prestado durante toda esta fase.

Um especial obrigado, à minha família e amigos pelo apoio incondicional em todos os momentos menos bons, nos quais estiveram sempre presentes.

Índice Geral

1. Introdução	1
2. Metodologia	2
3. Fisiopatologia	2
3.1. Hemólise intra e extravascular	3
4. Manifestações Clínicas	3
4.1. Complicações	4
5. Diagnóstico	4
5.1. Alterações Analíticas	5
Parâmetros Hematológicos	6
Parâmetros Bioquímicos	6
Parâmetros Hemostáticos	6
5.2 Diagnóstico Definitivo	7
Esfregaço de sangue periférico	7
Auto aglutinação	8
Teste de Coombs direto	9
6. Tratamento	10
6.1. Resolução da hemólise	10
Imunossupressores	12
6.1.1. Glucocorticóides	12
6.1.2. Azatioprina	13
6.1.3. Ciclosporina	14
6.1.4. Ciclofosfamida	15
6.1.5. Leflunomida	16
6.1.6. Micofenolato de mofetil	17
Imunomoduladores	17
6.1.7. Imunoglobulina endovenosa	18
6.1.8. Clodronato liposomal	19
6.1.9. Danazol	19
Esplenectomia	20
6.2. Alívio da hipoxia tecidual	20
6.3. Prevenção de complicações tromboembólicas	21
Aspirina (Ácido acetilsalicílico)	21
Clopidogrel	22
Heparina	22
6.4. Terapia de suporte	24
7. Prognóstico	24
8. Conclusão	26
9. Bibliografia	27

Índice de figuras

Figura 1. Esfregaço sanguíneo com presença de esferócitos e policromatófilos, adaptado de (Valenciano et al. 2014)

Figura 2 e 3. Diferença de um esfregaço sanguíneo com presença de Rouleaux (Fig.2) e com aglutinação (Fig.3), adaptado de (Valenciano et al. 2014)

Índice de tabelas

Tabela 1. Alterações analíticas presentes no momento do diagnóstico de cães com AHIM

Tabela 2. Fármacos utilizados no tratamento da AHIM canina

Índice de diagramas

Diagrama 1. Abordagem terapêutica à AHIM canina, *adaptado de Scott-Moncrieff (2014a)*

Lista de abreviaturas

µg: Microgramas

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AHIM: Anemia hemolítica imunomediada

ALT: Alanina aminotransferase

ARN: Ácido ribonucleico

AST: Aspartato aminotransferase

Bid: Duas vezes ao dia

CID: Coagulação intravascular disseminada

CL: Clopidogrel

dl: Decilitro

Ev: Endovenoso

FA: Fosfatase alcalina

Fc: Proteína do fragmento cristalizável

h: Hora

Ig: Imunoglobulinas

IghEv: Imunoglobulina humana endovenosa

IL: Interleucinas

Kg: Quilograma

MCP-1: Proteína-1 quimiotática de monócitos

mg: Miligrama

ml: Mililitro

OF: Fragilidade osmótica eritrocitária

PDF: Produtos de degradação da fibrina

PO: *Per os*

SC: Subcutâneo

Sid: Uma vez ao dia

Tid: Três vezes ao dia

TP: Tempo de protrombina

TPIM: Trombocitopenia imunomediada

TTPA: Tempo de tromboplastina parcialmente ativada

UI: Unidades Internacionais

1. INTRODUÇÃO

A anemia hemolítica é uma condição em que ocorre uma rápida destruição dos eritrócitos, sendo a sua regeneração a partir de células precursoras insuficiente para repor os eritrócitos destruídos (Cohn 2009). A anemia hemolítica pode ser classificada em extravascular ou intravascular, com base na sua fisiopatologia e em congênita ou adquirida, baseada na idade do animal (Couto 2014).

Segundo Couto (2014), a hemólise extravascular adquirida é o tipo de anemia hemolítica mais frequente no cão.

A etiologia da anemia hemolítica pode ser diversa. Algumas das etiologias identificadas são: infecciosa (ex. hemoparasitas, vírus), metabólica (ex. hipofosfatemia), tóxica (ex. intoxicação por metais, alimentos e fármacos), microangiopática (coagulação intravascular disseminada - CID, hemangiossarcoma), imunomediada (anemia hemolítica imunomediada - AHIM, isoeritrólise neonatal), genética (deficiência em piruvato quinase) entre outras (Hackner S. G. 2007; Cohn 2009; Couto 2014).

A AHIM é uma das causas de hemólise mais comum em cães (Nassiri et al. 2005; Couto 2014). Cerca de 60 a 75 % dos casos de AHIM em cães são de origem primária, ou seja, ocorrem devido a um distúrbio idiopático caracterizado por uma reação autoimune do tipo II, em que ocorre síntese de anticorpos, secundária a uma desregulação do sistema imunitário contra os antigénios endógenos dos eritrócitos (Jackson & Kruth 1985; Klag et al. 1993; Reimer et al. 1999; McCullough 2003; Swann & Skelly 2011). Contudo, a AHIM pode ser de origem secundária, quando os anticorpos são dirigidos contra eritrócitos com antigénios alterados, resultantes da interação com vários agentes, tais como fármacos, células neoplásicas, hemoparasitas, agentes infecciosos ou outras doenças imunomediadas como lúpus eritematoso sistémico (Sokol et al. 1981; Lobetti & Schoeman 2001; Carr et al. 2002).

A AHIM afeta principalmente cães de meia-idade (entre 6 a 7 anos), podendo afetar ambos os sexos, ocorrendo no entanto com maior frequência em fêmeas e animais esterilizados (Scott-Moncrieff 2014a; Miller 2009). Contudo, a associação entre o género e o risco de desenvolver AHIM permanece por esclarecer (Weinkle et al. 2005).

Apesar de todas as raças poderem ser afetadas, existe uma clara predisposição genética para o seu desenvolvimento no Cocker Spaniel (Burgess et al. 2000; Weinkle et al. 2005; Mason et al. 2003), no Schnauzer miniatura (Weinkle et al. 2005), no Springer Spaniel Inglês e no Collie (Klag et al. 1993).

A AHIM primária pode apresentar uma elevada taxa de mortalidade, variando esta entre os 23% e 83% consoante os estudos. A maioria das mortes ocorre nas primeiras três semanas de tratamento, sendo o tromboembolismo a causa mais frequente. Outras causas de morte estão associadas a complicações secundárias do tratamento instituído ou a complicações da própria doença, como hemólise progressiva e falência orgânica em associação com CID (Jackson &

Kruth 1985; Klag et al. 1993; Duval & Giger 1996; Reimer et al. 1999; Scott-Moncrieff et al. 2001; Carr et al. 2002; Weinkle et al. 2005; Semple & Freedman 2005; Kidd & Mackman 2013). A elevada taxa de mortalidade associada a esta doença, a escassez de consenso nos protocolos de tratamento e o constante aparecimento de propostas para novas abordagens terapêuticas, motivaram a realização da presente revisão bibliográfica.

1. METODOLOGIA

A pesquisa bibliográfica para o presente artigo de revisão foi realizada entre Janeiro e Maio de 2014, através das seguintes bases de dados: PUBMED, Google e usando livros e revistas científicas indexadas.

Foi realizada uma pesquisa inicial e estudo sobre o tema, onde foi dada preferência a artigos recentes, o que permitiu identificar artigos importantes para orientar a pesquisa subsequente.

As palavras-chave utilizadas nos diferentes motores de busca foram as seguintes: anemia hemolítica imunomediada, cão, etiologia, fisiopatologia, tratamento, novas terapias e prognóstico, tendo sido pesquisadas em Português e Inglês.

Não foram criados critérios de inclusão por palavras-chave devido à relativamente pequena quantidade de artigos originais existentes sobre o tema.

3. FISIOPATOLOGIA

Na AHIM primária os eritrócitos são destruídos através de uma reação de hipersensibilidade tipo II (citotóxica), que pode resultar em hemólise intra ou extravascular mediada pelas ligações anticorpos anti-eritrócito e/ou pelos fatores do sistema do complemento (Miller 2009; Kjelgaard-Hansen et al. 2011).

As classes de anticorpos mais comumente identificados nos eritrócitos de cães e gatos com AHIM são imunoglobulinas (Ig) do tipo G e M, sendo as Ig A menos comuns (Scott-Moncrieff 2014a).

Na AHIM a hemólise pode resultar da ativação intravascular dos fatores do complemento mediada pelas IgM ou resultar da eritrofagocitose mediada pela IgG, principalmente no fígado e baço, resultando na formação de esferócitos e no aumento da fragilidade osmótica dos eritrócitos (Frank 1977).

Os mecanismos subjacentes à reatividade auto-imunitária permanecem pouco conhecidos e existem poucos estudos que caracterizem quais os anticorpos potencialmente auto-reativos em cães com AHIM (Tan et al. 2012), embora certos subtipos da doença possam estar associados com halotipos particulares do antigénio leucocitário canino (DLA) (Kennedy et al. 2006).

Os auto-anticorpos que foram identificados na AHIM canina são específicos para glicoproteínas de membrana do eritrócito (glicoforinas), canais de troca de aniões dos eritrócitos, banda 3, e a espectrina, um componente do citoesqueleto do eritrócito (Day 1999). Tais anticorpos também

foram reconhecidos em cães normais e podem estar envolvidos na remoção normal dos eritrócitos envelhecidos (Barker et al. 1991; Whitley & Day 2011; Tan et al. 2012).

A fisiopatologia da AHIM é complexa, envolvendo uma resposta inflamatória sistêmica caracterizada pelo aumento de proteínas de fase aguda e por leucocitose, correlacionando-se a magnitude destas alterações com a gravidade das alterações em múltiplos órgãos no exame *post-mortem* (Mitchell et al. 2009; McManus & Craig 2001).

A AHIM primária canina é sugerida como um processo pró-inflamatório parcialmente impulsionado pelo aumento da atividade de citocinas, como as proteínas-1 quimiotáticas de monócitos (MCP-1), embora até à data os perfis de citocinas sistêmicas de cães com AHIM primária não tenham sido estudados (Kjelgaard-Hansen et al. 2011; Duffy et al. 2010).

Sabe-se também que a ativação inespecífica dos linfócitos pode resultar num processo inflamatório crônico com a formação de linfócitos auto-reativos (Scott-Moncrieff 2014a).

3.1. Hemólise intra e extra vascular

A AHIM implica uma citotoxicidade mediada por anticorpos que resulta na lise intravascular de eritrócitos após a ativação completa da via terminal do sistema do complemento ou na hemólise extravascular que ocorre em consequência da opsonização e fagocitose pelas células do sistema fagocítico mononuclear no fígado, baço ou noutros lugares (Whitley & Day 2011; Miller 2009).

As células mononucleares são mobilizadas da medula óssea e recrutadas para os locais de inflamação através da MCP-1, uma citocina derivada de células mononucleares e endoteliais (Duffy et al. 2010). Em cães com AHIM foi recentemente descrito um aumento das concentrações de MCP-1, o que é consistente com o papel fundamental desempenhado pelo sistema fagocítico macrofágico em cães com AHIM (Duffy et al. 2010).

A hemólise extravascular é mais comum do que a intravascular, e é um processo tipicamente menos agudo, sendo geralmente acompanhado por esferocitose e hiperbilirrubinemia (Scott-Moncrieff 2014a).

4. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Os sinais clínicos que ocorrem na maioria dos cães com AHIM são inespecíficos e incluem letargia e perda de apetite, sendo acompanhados por vômito e diarreia em 15 a 30 % dos casos (Mason et al. 2003; Piek et al. 2008; Piek et al. 2011).

Os sinais mais específicos de hemólise intravascular incluem alteração da cor das fezes de castanho para amarelo a laranja e da cor da urina para avermelhada (Reimer et al. 1999; Burgess et al. 2000; Mason et al. 2003; Piek et al. 2008; Piek et al. 2011).

A maioria dos cães com AHIM desenvolve rapidamente anemia, possivelmente num curto espaço de tempo, como três dias (Piek 2011). Como consequência, ao exame físico podem ser observados taquicardia, taquipneia, pulso filiforme, mucosas pálidas e a presença de um sopro

cardíaco sistólico (Reimer et al. 1999; Burgess et al. 2000). A febre é um sinal clínico comum, ocorrendo em 46% dos cães (Mellett et al. 2011; Piek et al. 2008; Piek et al. 2011).

A presença de icterícia é observada primariamente nas membranas mucosas quando a concentração de bilirrubina excede 2 a 3 mg/dl, afetando posteriormente a pele quando as concentrações são mais elevadas (Balch & Mackin 2007a).

A presença de petéquias, descrita em 2 a 5% dos casos, equimoses e melena podem ser resultado de uma trombocitopenia grave que pode ter etiologia imunomediada. A AHIM com trombocitopenia imunomediada (TPIM) concomitante designa-se por Síndrome de Evans (Burgess et al. 2000; Piek et al. 2008; Piek 2011; Balch & Mackin 2007a).

A presença de organomegalia abdominal cranial, devido à esplenomegalia e hepatomegalia é encontrada em até 40 % dos casos (Klag et al. 1993; Reimer et al. 1999; Burgess et al. 2000; Piek et al. 2008).

4.1. Complicações

A presença de tromboembolismo, particularmente tromboembolismo pulmonar, é um achado frequente no exame *post-mortem* de cães com AHIM, embora possa ocorrer também em outros órgãos como coração, fígado, baço, rim e hipófise (Scott-Moncrieff et al. 2001; Carr et al. 2002; Klag et al. 1993).

Os fatores predisponentes para o tromboembolismo incluem estase venosa, dano endotelial e hipercoagulabilidade, que podem ser exacerbados pelo confinamento em jaula, decúbito e presença de um cateter venoso periférico (Weinkle et al. 2005), e ainda pela trombocitopenia, hiperbilirrubinemia, leucocitose e hipoalbuminemia (Carr et al. 2002; Piek et al. 2008).

A hipercoagulabilidade é definida pela hiperfibrinogenemia, deficiência em anti-trombina e aumento dos produtos de degradação da fibrina, os D -dímeros (Mischke R. 1998 *cit. por* Scott-Moncrieff et al. 2001).

5. DIAGNÓSTICO

A distinção entre AHIM primária e secundária é fundamental para a instituição de um tratamento efetivo, uma vez que a não identificação de uma causa subjacente pode contribuir para um mau prognóstico (Balch & Mackin 2007a).

O predomínio da etiologia primária reflete, provavelmente, uma incapacidade na identificação de uma causa subjacente, mais do que uma verdadeira incidência elevada da AHIM primária (Balch & Mackin 2007a).

A aproximação diagnóstica para descartar AHIM secundária inclui a recolha da história clínica: nomeadamente a história de administração de fármacos, vacinas e exposição a tóxicos; um exame físico detalhado, incluindo exame retal, oftalmológico e neurológico; despiste de doenças infecciosas específicas; investigação de causas de estimulação antigénica crónica e pesquisa de neoplasias (Scott-Moncrieff 2014a).

Os testes de diagnóstico a considerar, além de um hemograma, painel bioquímico e análise de urina incluem cultura de urina, radiografia abdominal e torácica, ecografia abdominal, citologia e/ou histopatologia de medula óssea (se anemia for não regenerativa) e serologias de doenças infecciosas (Scott-Moncrieff 2014a).

5.1 Alterações Analíticas

No momento da apresentação clínica os cães com AHIM primária manifestam alterações hematológicas e bioquímicas, que embora não sejam diagnósticas da patologia podem indicar a presença de AHIM. Na tabela 1 encontram-se sumariadas as alterações analíticas mais frequentes em animais com AHIM.

Tabela 1. Alterações analíticas presentes no momento do diagnóstico de cães com AHIM.

HEMOGRAMA		PAINEL BIOQUÍMICO	
Valor médio de Hematócrito	(Burgess et al. 2000; Piek et al. 2011)	Hiperbilirrubinemia	(Burgess et al. 2000; Carr et al. 2002; Helmond et al. 2010)
14%			
Anemia fortemente regenerativa (reticulocitose)	(Burgess et al. 2000; Mason et al. 2003; Mitchell et al. 2009)	Hipoalbuminemia	(Carr et al. 2002)
Leucocitose	(Burgess et al. 2000; Carr et al. 2002; Mason et al. 2003; Mitchell et al. 2009; Piek et al. 2008)	Aumento da ALT	(Burgess et al. 2000)
Aumento do valor dos neutrófilos em banda	(Piek et al. 2008; Weinkle et al. 2005; Helmond et al. 2010)	Aumento da FA	(Burgess et al. 2000)
Aumento do valor dos neutrófilos segmentados	(Carr et al. 2002; Helmond et al. 2010)	Aumento da AST	(Burgess et al. 2000)
Monocitose	(Thompson et al. 2004)	Hiperfibrinogenemia	(Burgess et al. 2000; Scott-Moncrieff et al. 2001; Weinkle et al. 2005; Piek et al. 2008; Helmond et al. 2010).
			(Burgess et al. 2000; Scott-Moncrieff et al. 2001; Carr et al. 2002; Piek et al. 2008)
Esferocitose	(Carr et al. 2002; Mason et al. 2003; Weinkle et al. 2005; Piek et al. 2008; Helmond et al. 2010)	Aumento do TTPA	
Trombocitopenia	(Burgess et al. 2000; Carr et al. 2002; Mason et al. 2003; Piek et al. 2008; Helmond et al. 2010; Swann & Skelly 2011)	Prolongamento do TP	(Burgess et al. 2000; Piek et al. 2008)
Auto aglutinação	(Carr et al. 2002; Mason et al. 2003; Helmond et al. 2010)	Aumento das concentrações dos D - Dímeros	(Scott-Moncrieff et al. 2001; Weinkle et al. 2005; Piek et al. 2008).
		Diminuição da atividade anti-trombina	(Scott-Moncrieff et al. 2001; Piek et al. 2008).

Parâmetros Hematológicos

As alterações hematológicas em cães com AHIM incluem geralmente anemia fortemente regenerativa, com valor médio de hematócrito de 13%, embora aproximadamente 33% dos cães com AHIM primária manifestem anemia não regenerativa no momento da apresentação (Piek 2011; Scott-Moncrieff 2014a).

A reticulocitose tarda cerca de 4 - 5 dias a desenvolver-se e a maioria dos cães desenvolve sinais clínicos cerca de 3 dias antes do seu aparecimento, pelo que a anemia regenerativa pode desenvolver-se apenas alguns dias após a apresentação clínica. Caso neste período não se desenvolva reticulocitose, devem ser considerados como diagnósticos diferenciais a AHIM não regenerativa e aplasia eritrocitária pura (Scott-Moncrieff 2014a).

Pode ainda ser observado um aumento do número de eritrócitos nucleados, a presença de policromasia, esferocitose (Figura 1) e de um leucograma inflamatório, frequentemente com mudança para células imaturas (leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda), monocitose em 50 % dos casos e trombocitopenia leve a grave em 60% dos casos (Burgess et al. 2000; Carr et al. 2002; Piek et al. 2008; Mitchell et al. 2009; Helmond et al. 2010; Swann & Skelly 2011).

Os mecanismos sugeridos para a trombocitopenia incluem a presença de anticorpos direcionados contra eritrócitos e plaquetas (Síndrome de Evans), CID e sequestro esplênico (Scott-Moncrieff 2014a).

Parâmetros Bioquímicos

A concentração de proteínas plasmáticas está geralmente normal ou aumentada, podendo ainda estar presente hemoglobulinemia ou bilirrubinemia apresentando-se o plasma com coloração avermelhada ou amarelada, respetivamente. Embora a hiperbilirrubinemia seja uma característica comum de AHIM, não ocorre em todos os casos, bem como a sua ausência não a descarta. Fatores que determinam a presença e gravidade da hiperbilirrubinemia incluem a taxa de hemólise e a função hepática, que pode estar comprometida pela hipóxia e pela necrose hepática em cães com AHIM (Scott-Moncrieff 2014a). Outras alterações nos parâmetros bioquímicos encontram-se descritas na tabela 1.

Parâmetros Hemostáticos

As alterações hemostáticas observadas incluem aumento do tempo de protrombina (TP) em até 50% dos cães e aumento do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) em 50-60% dos cães com AHIM (Burgess et al. 2000; Scott-Moncrieff et al. 2001; Carr et al. 2002; Piek et al. 2008).

Estas alterações sugerem a presença de CID em muitos cães, e é suportada pela presença de hiperfibrinogenemia, aumento da concentração dos D- Dímeros e produtos de degradação da

fibrina e pela diminuição da atividade anti-trombina (Scott-Moncrieff et al. 2001; Piek et al. 2008). A maioria dos cães com AHIM apresenta hipercoagulabilidade avaliada através da técnica de tromboelastografia (Scott-Moncrieff 2014a; Sinnott & Otto 2009).

5.2 Diagnóstico Definitivo

Não existe um único exame “*gold standard*” aceite para o diagnóstico de AHIM, uma vez que todos os testes presentemente disponíveis apresentam limitações (Morley et al. 2008; Piek 2011).

Assim, o diagnóstico da AHIM canina é obtido com base na presença de um quadro clínico sugestivo de anemia hemolítica em combinação com a evidência da destruição imunomediada dos eritrócitos (presença marcada de esferocitose e/ou teste de auto-aglutinação positivo e/ou teste de Coombs positivo) (Morley et al. 2008; Carr et al. 2002; Piek et al. 2008).

O teste de Coombs direto é ainda o principal método utilizado para demonstrar anticorpos anti-eritrocitários; outros métodos alternativos incluem a citometria de fluxo (Morley et al. 2008) e testes ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), embora estes métodos não estejam disponíveis rotineiramente na prática clínica (Morley et al. 2008; Piek 2011).

A presença de policromasia com auto-aglutinação e esferocitose num animal com anemia de início agudo é virtualmente patognomónico de AHIM, não sendo normalmente nestes casos necessário o teste de Coombs para confirmar o diagnóstico (Couto 2014).

Piek (2011) sugere o uso de múltiplos testes laboratoriais para superar o problema da baixa sensibilidade do teste de Coombs direto para o diagnóstico AHIM, nomeadamente o teste de fragilidade osmótica eritrocitária (OF) das concentrações salinas específicas (5,50 e 90%), o teste de auto-aglutinação e a avaliação da presença de esferócitos (Piek et al. 2008).

Esfregaço de sangue periférico

Através da realização de um esfregaço sanguíneo é possível diagnosticar a presença de esferócitos. Embora a presença de esferócitos não seja considerada patognomónica, é considerada uma alteração morfológica característica de AHIM e quando presente em valores elevados a esferocitose é altamente sugestiva do diagnóstico (Balch & Mackin 2007a).

A presença de esferocitose foi identificada em 89% a 95% dos cães com AHIM (Scott-Moncrieff et al. 2001; Carr et al. 2002; Weinkle et al. 2005).

Os esferócitos (Figura 1) são eritrócitos de diâmetro inferior, de forma redonda o que lhes confere um aspeto mais denso pela perda da palidez central (Valenciano et al. 2014). Contudo, como os esferócitos resultam da atividade fagocítica nos eritrócitos, eles podem também estar presentes noutras doenças, como na síndrome hemofagocítico, histiocitose hemofagocítica e hemólise induzida por zinco. Nestes casos os valores tendem a ser inferiores quando comparados com os valores de cães com AHIM. As técnicas para a quantificação do número de esferócitos são tipicamente semi-quantitativas (Scott-Moncrieff 2014a).

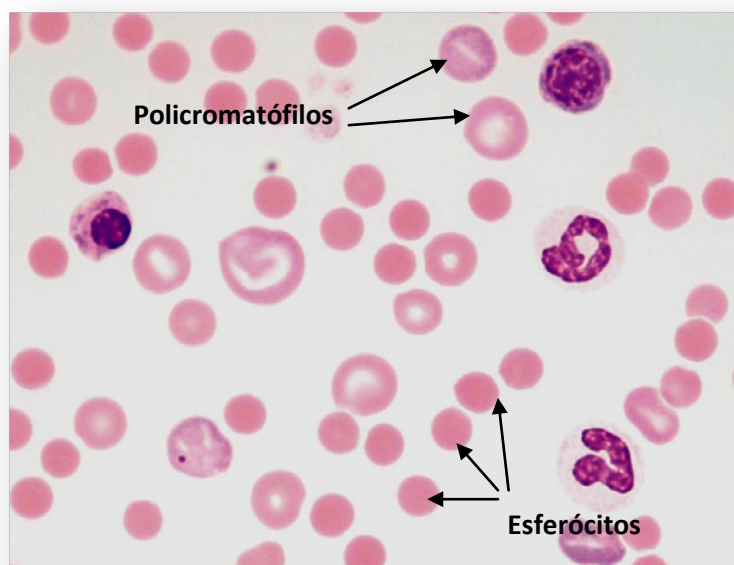


Figura 1. Esfregaço sanguíneo com presença de esferócitos e policromatófilos, *adaptado de (Valenciano et al. 2014)*

Segundo Piek (2011) as desvantagens deste método são a alta variabilidade inter-observador e o facto do número de esferócitos por campo de grande ampliação depender do hematócrito. Outro achado frequente no esfregaço sanguíneo é a presença de células fantasmas, que são membranas remanescentes de eritrócitos que foram sujeitos a lise intravascular. A lise pode ser induzida por mecanismos imune ou não imunomediados, pelo que as células fantasmas não são diagnósticas de AHIM (Scott-Moncrieff 2014a).

Auto-aglutinação

O teste de aglutinação é usado para detetar a presença de aglutinação espontânea dos eritrócitos (Scott-Moncrieff 2014b) .

A aglutinação espontânea ou auto-aglutinação consiste num agrupamento tridimensional de eritrócitos, que ocorre a partir de ligações cruzadas de anticorpos associados à superfície eritrocitária, como um resultado da presença de um título elevado de IgG ou IgM na membrana dos eritrócitos. Deve ser diferenciada da formação *rouleaux* (grupos de eritrócitos em pilhas lineares numa conformação semelhante a um rolo de moedas e é secundária à associação eletrostática entre eritrócitos) (Fig. 2 e 3), através da dispersão com soro fisiológico (Scott-Moncrieff 2014b; Balch & Mackin 2007a; Valenciano et al. 2014).

A avaliação da presença de aglutinação é realizada por mistura de uma gota de sangue (fresco ou anticoagulado com EDTA) com um volume igual ou superior de solução salina numa lâmina de vidro (Hackner S. G. 2007).

A suspensão dos eritrócitos é então avaliada tanto pelo exame macroscópico quer pelo microscópico, a uma temperatura de cerca de 37 ° C (Scott-Moncrieff 2014b).

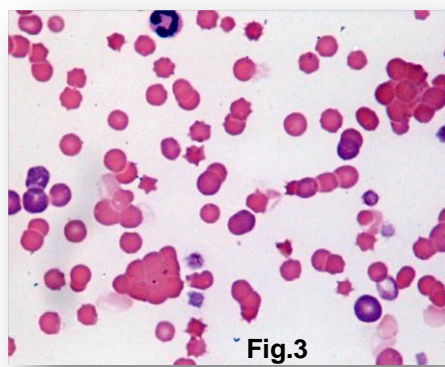
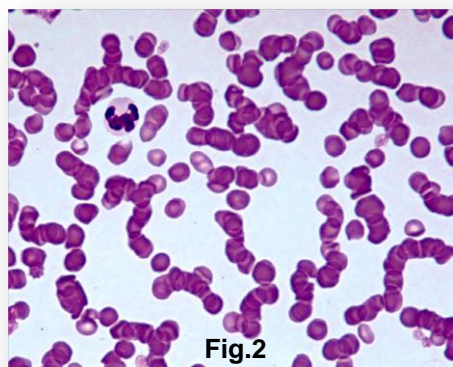


Figura 2 e 3 Diferença de um esfregaço sanguíneo com presença de Rouleaux (Fig.2) e com aglutinação (Fig.3), adaptado de (Valenciano et al. 2014).

Na maioria dos laboratórios a auto-aglutinação que persiste após uma diluição salina é considerado diagnóstico para AHIM, enquanto que outros laboratórios somente consideram diagnóstico quando a aglutinação persiste após 3 lavagens (Scott-Moncrieff 2014b).

A identificação de auto-aglutinação num esfregaço sanguíneo é normalmente considerada um critério diagnóstico para AHIM, tendo sido observada em 40 a 89 % dos casos com AHIM (Carr et al. 2002; Weinkle et al. 2005; Scott-Moncrieff 2014a).

Teste de Coombs direto

O teste de Coombs indireto deteta a presença de anticorpos contra os eritrócitos no soro, enquanto o teste de Coombs direto deteta a presença de anticorpos, do complemento ou de ambos, opsonizados nos eritrócitos. No diagnóstico da AHIM canina utiliza-se o teste de Coombs direto (Balch & Mackin 2007a; Scott-Moncrieff 2014b).

O teste de Coombs direto utiliza anticorpos anti-globulinas caninas que se vão ligar às Ig ou a moléculas do complemento que se encontram aderidas à superfície dos eritrócitos (Scott-Moncrieff 2014b).

O resultado dessa aglutinação pode ser apresentado de várias formas, dependendo do laboratório: positivo ou negativo, 1 + a 4 + de aglutinação, ou como a mais baixa diluição do reagente que resulta na aglutinação (Scott-Moncrieff 2014b).

O teste de Coombs direto com anti-soros polivalentes é o teste de diagnóstico mais frequentemente usado para AHIM, na ausência de esferocitose e auto-aglutinação. No entanto, este teste não é nem particularmente sensível, nem específico para confirmar o diagnóstico de AHIM (Scott-Moncrieff 2014a).

Um teste de Coombs positivo indica que anticorpos, o complemento ou ambos estão presentes na superfície dos eritrócitos, mas não significa que os anticorpos são direcionados especificamente contra a membrana dos eritrócitos ou que os anticorpos estão a provocar hemólise. Aproximadamente 60% a 80% dos cães com AHIM apresentam um teste de Coombs positivo, embora um teste de Coombs positivo possa ocorrer noutras doenças inflamatórias causando resultados falsos-positivos (Scott-Moncrieff 2014a).

Baixos títulos no teste de Coombs podem ser vistos em cães doentes sem sinais evidentes de hemólise (Jacobs et al. 1984; Overmann et al. 2007).

O padrão de reatividade dos anticorpos no teste de Coombs direto pode ser de significado diagnóstico (Piek 2011). Estudos recentes sugerem que a distinção de AHIM primária de secundária pode ser auxiliada através do padrão de reatividade do teste de Coombs (Warman et al. 2008).

O teste de Coombs é considerado desnecessário em cães com auto-aglutinação persistente observada após lavagem (Balch & Mackin 2007a).

6. TRATAMENTO

Ao planejar o tratamento de um cão com AHIM, os objetivos devem incluir a resolução da hemólise, o restabelecimento da oxigenação tecidual, a prevenção de complicações, nomeadamente tromboembólicas, e administração de tratamento de suporte (Tan et al. 2012).

Não há evidência suficiente que documente com precisão a associação positiva entre fármacos individuais e a sobrevivência. Apesar do desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da AHIM canina, não foi descrita uma correspondente diminuição da taxa de mortalidade. Além disso, o elevado custo de alguns fármacos é um impedimento para o seu uso (Grundy & Barton 2001).

6.1. Resolução da Hemólise

Os fármacos imunossupressores são a chave para a resolução da hemólise em cães com AHIM. O uso de glucocorticóides como primeira linha no tratamento da AHIM ocorre devido à sua rápida ação, baixo risco de toxicidade imediata e baixo custo. A azatioprina e ciclosporina são os fármacos comumente usados como a segunda linha no tratamento da AHIM, podendo ser introduzidos na fase inicial ou adicionados posteriormente. Recorre-se ao seu uso, geralmente, se a resposta aos glucocorticóides for inadequada ou se os efeitos adversos forem inaceitáveis, pois uma das grandes vantagens da sua associação ao esquema terapêutico advém da possibilidade de reduzir as doses de glucocorticóides (Swann & Skelly 2011; Whitley & Day 2011; Scott-Moncrieff 2014a).

Considera-se uma resposta positiva à terapêutica a presença de indicadores que sugerem a resolução de hemólise como a estabilização ou aumento do hematócrito, conversão de um teste de Coombs positivo para negativo, resolução da auto-aglutinação e/ou de esferocitose, normalização da contagem de reticulócitos e resolução do leucograma inflamatório (Scott-Moncrieff 2014a).

Novos agentes imunossupressores como o micofenolato de mofetil, leflunomida e a ciclosporina têm sido descritos no tratamento de AHIM, permitindo usar combinações que bloqueiam diferentes vias de ativação do sistema imunitário e selecionar fármacos com perfis de toxicidade diferentes mas com resultados pouco consistentes (Al-Ghazlat 2009).

Na tabela 2, encontram-se os fármacos comumente utilizados no tratamento da AHIM.

Tabela 2. Fármacos utilizados no tratamento da AHIM canina.

FÁRMACO	DOSE RECOMENDADA
<i>Prednisona / Prednisolona</i>	2 mg/Kg PO a cada 12 a 24 horas
<i>Azatioprina</i>	2 mg/Kg PO a cada 24 horas
<i>Ciclosporina</i>	5 a 10 mg/Kg PO a cada 12 a 24 horas
<i>Ciclofosfamida</i>	50 mg/m ² PO a cada 24 horas, 4 dias Ou 200 mg/m ² Ev, seguido de 50 mg/m ² PO a cada 24 horas, 4 dias
<i>Leflunomida</i>	3 a 4 mg/Kg/ PO a cada 24 horas
<i>Micofenolato de Mofetil</i>	10 a 20 mg/Kg PO a cada 12 horas
<i>Danazol</i>	5 mg/Kg /PO 2 a 3 vezes ao dia
<i>Imunoglobulina humana endovenosa</i>	0.25 a 2.2 g/Kg Ev durante 6 a 12 horas
<i>Aspirina baixa dose</i>	0.5 mg/Kg/PO a cada 24 horas
<i>Heparina não fracionada</i>	250 U/Kg Ev ou SC a cada 6 horas Ou 10-25 U/Kg/hora em infusão contínua
<i>Clopidogrel</i>	1 a 3 mg/Kg/dia PO
<i>Heparina de baixo peso molecular:</i>	
• <i>Dalteparina</i>	150 U/Kg SC a cada 8 a 12 horas
• <i>Enoxaparina</i>	0.8 mg/kg SC a cada 6h

Imunossupressores

6.1.1. Glucocorticóides

Os glucocorticóides atuam primariamente pela ligação a um recetor glucocorticóide citoplasmático, que em seguida se transloca para o núcleo, ligando-se a sequências específicas do ADN e influenciando a transcrição dos genes subsequentes (Whitley & Day 2011).

Os efeitos anti-inflamatórios dos glucocorticóides incluem estabilização das membranas celulares dos granulócitos, mastócitos e monócitos-macrófagos; inibição da fosfolipase A2 com consequente inibição da via das ciclooxigenases e lipoxigenases, diminuição da libertação das citocinas pró-inflamatórias interleucinas (IL) -1 e IL-6 e desregulação na expressão do recetor Fc (proteína do fragmento cristalizável) nos macrófagos (Whitley & Day 2011).

A rápida ação dos glucocorticóides no tratamento da AHIM deve-se predominantemente à rápida diminuição da atividade fagocítica dos macrófagos esplénicos e hepáticos e à inibição da via do complemento, enquanto os efeitos a longo prazo resultam primariamente da supressão da imunidade celular. O mecanismo dos efeitos imunossupressores é menos claro, mas inclui uma redução no processamento e apresentação de antigénios pela ação sobre os macrófagos e células dendríticas, uma supressão direta da função das células T (*T helper*) e uma diminuição da afinidade do anticorpo para os epítomos da membrana celular (Whitley & Day 2011).

As doses de prednisolona superiores a 2 mg/kg a cada 12 horas são suscetíveis de resultar em efeitos adversos inaceitáveis, sem melhorias aparentes no resultado a curto ou longo prazo, sendo preferível o uso de doses inferiores de glucocorticóides associadas a outro fármaco imunossupressor (Swann & Skelly 2013). Desta forma, a dose de prednisolona / prednisona recomendada é de 1 a 2 mg/Kg PO a cada 12 horas, embora várias doses e protocolos tenham sido descritos (Scott-Moncrieff 2014a; Al-Ghazlat 2009; Balch & Mackin 2007b; Reimer et al. 1999; Carr et al. 2002; Burgess et al. 2000).

A razão mais comum para o uso da dexametasona dose 0,5 - 1 mg/Kg/dia Ev (Piek et al. 2011) em detrimento da prednisolona é a possibilidade da administração parenteral em cães com vômito que não conseguem tolerar medicação oral. O seu uso de forma crónica não está aconselhado, uma vez que apresenta um tempo de semi-vida maior que a prednisolona / prednisona (Scott-Moncrieff 2014a) e com mais efeitos secundários.

O uso de glucocorticóides isoladamente apresenta resultados positivos no tratamento da maioria dos cães com AHIM (Swann & Skelly 2013; Scott-Moncrieff 2014a).

Segundo vários autores não há consenso sobre a duração da terapêutica, sobre a forma de redução da dose, ou sobre a atuação em caso de recaídas, sendo que a maioria dos estudos descreve apenas o protocolo imunossupressor usado nas primeiras semanas de tratamento. Os estudos clínicos sobre a eficácia do tratamento a longo prazo são escassos (Swann & Skelly 2013; Piek et al. 2008; Al-Ghazlat 2009).

No estudo retrospectivo de Piek et al. (2008), em que foram estudados 149 cães, foi usado um protocolo que ajustava a terapia à evolução clínica durante um período de 3 meses. Foi possível concluir a partir dos resultados obtidos que o protocolo descrito da combinação de prednisolona e azatioprina foi eficaz no que diz respeito à sobrevivência e evolução clínica, e que um tratamento com duração de aproximadamente 3 meses foi suficiente para um tratamento com sucesso. No entanto, 10% dos cães tiveram uma recorrência de IMHA até 4 anos após a primeira crise hemolítica (Piek et al. 2008; Piek et al. 2011).

Os efeitos adversos mais comuns do uso dos glucocorticóides incluem poliúria, polidipsia, taquipneia, ganho de peso, predisposição para infecções, atraso na cicatrização, alterações dermatológicas, hemorragia e ulceração gastrointestinais e atrofia muscular (Piek et al. 2008; Whitley & Day 2011; Al-Ghazlat 2009), podem ainda causar resistência à insulina, hiperglicemia, hepatopatia vacuolar e hipercoagulabilidade (Flint et al. 2011).

Em humanos, a resistência aos glucocorticóides é uma causa importante na falha do tratamento em doenças inflamatórias. Pensa-se que o mesmo fenômeno possa ocorrer em cães, mas a incidência deste problema é desconhecida (Whitley & Day 2011).

6.1.2. Azatioprina

A azatioprina é um imidazol sintético citotóxico derivado do 6-mercaptopurina. Ambos são tiopurinas, que competem com as purinas na síntese do ácido nucleico resultando na formação de cadeias de ácidos nucleicos não funcionais. Desta forma, a síntese do ácido desoxirribonucleico (ADN) e do ácido ribonucleico (ARN) é inibida, a mitose e o metabolismo celular é interrompido, levando à diminuição da proliferação de células que se dividem rapidamente (Whitley & Day 2011; Scott-Moncrieff 2014c).

A azatioprina tem um efeito preferencial na imunidade celular com redução do número de linfócitos T e inibição da síntese de anticorpos dependentes de linfócitos T (Whitley & Day 2011; Scott-Moncrieff 2014c; Al-Ghazlat 2009).

Embora o tempo necessário para que a azatioprina induza um efeito clínico seja alvo de alguma controvérsia, é sugerido que os efeitos do uso da azatioprina ocorram entre 2 a 8 semanas após o início do tratamento (Scott-Moncrieff 2014c; Al-Ghazlat 2009; Balch & Mackin 2007b).

A azatioprina tem sido muito utilizada em combinação com glucocorticóides, de modo a obter um efeito sinérgico, para permitir uma rápida redução da dose ou uma descontinuação dos glucocorticóides (o designado efeito “poupador de glucocorticóides”) (Whitley & Day 2011).

A azatioprina encontra-se apenas disponível numa formulação oral (Wang et al. 2013) e é recomendada na dose de 2 mg/kg/dia (Scott-Moncrieff 2014c; Weinkle et al. 2005).

O hemograma e a atividade das enzimas hepáticas devem ser monitorizados semanalmente durante o primeiro mês de terapia e depois mensalmente no decorrer do tratamento, devendo ser descontinuada se a contagem de neutrófilos diminuir significativamente (Al-Ghazlat 2009).

O uso de azatioprina no tratamento da AHIM canina encontra-se descrito em vários estudos, mas apesar de poder estar associada a um resultado favorável, as conclusões obtidas nos diversos estudos não permitem uma comparação direta, uma vez que os grupos de comparação diferem muito entre si (Reimer et al. 1999; Swann & Skelly 2011; Burgess et al. 2000).

A ausência de uma diferença estatisticamente significativa na sobrevivência de cães tratados com azatioprina em combinação com glucocorticóides comparativamente ao uso de glucocorticóides isolados indica não haver nenhum efeito benéfico da inclusão da azatioprina no tratamento padrão de todos os casos de AHIM. No entanto foi mencionada a necessidade da realização de um estudo cego randomizado para que se possa estabelecer a verdadeira diferença no efeito entre os dois protocolos de tratamento (Piek et al. 2011).

Os efeitos adversos mais comuns inerentes ao uso da azatioprina incluem hepatotoxicidade, pancreatite, mielossupressão e toxicidade gastrointestinal (Miller 2009; Whitley & Day 2011). Dado ser um fármaco citotóxico, as complicações a longo prazo associadas ao seu uso inclui um maior risco para o desenvolvimento de neoplasias, nomeadamente leucemias e neoplasias testiculares ou ováricas. Assim, e baseado no facto de a azatioprina ser reconhecida como um agente carcinogénico humano o seu uso em medicina veterinária deve ser restrito a casos onde foi demonstrado um efeito benéfico baseado em evidências (Piek et al. 2011).

Assim, a adição da azatioprina ao protocolo glucocorticóide está recomendada em cães que não apresentem ou apresentem uma resposta inadequada à terapia isolada com glucocorticóides em 5-7 dias (Scott-Moncrieff 2014c) ou em 2-3 semanas de tratamento, respetivamente (Piek et al. 2011) e em casos de cães com maus indicadores de prognóstico (Scott-Moncrieff 2014c).

6.1.3. Ciclosporina

A ciclosporina exerce o seu principal efeito bloqueando os genes necessários na transcrição de genes envolvidas na ativação dos linfócitos T, especialmente naqueles que codificam várias citocinas imunorreguladoras, nomeadamente a IL -2. A ciclosporina impede a ativação e proliferação de linfócitos T e a síntese secundária de outras citocinas, não interferindo com a imunidade humoral (Whitley & Day 2011; Scott-Moncrieff 2014c).

Os resultados dos estudos sobre a eficácia da ciclosporina no tratamento da AHIM são díspares. Segundo Scott-Moncrieff (2014a) o uso da ciclosporina mostra-se relativamente seguro e constitui uma opção no tratamento da AHIM em cães que não respondem à terapia com prednisolona isolada, nem à terapia combinada da prednisolona com azatioprina.

As doses de ciclosporina recomendadas são de 5 mg/Kg/PO a cada 24 horas (Swann & Skelly 2011; Scott-Moncrieff 2014c) a 10mg/Kg/PO a cada 12 horas, embora possam ser diminuídas para 1 a 2.5 mg/Kg/PO a cada 12 horas quando combinadas com cetoconazol (Scott-Moncrieff 2014c). Swann & Skelly (2011) sugerem que o uso de ciclosporina combinada com prednisolona pode estar associado a um aumento da mortalidade a longo prazo quando

comparado com o uso de prednisolona combinada com azatioprina ou com o uso de prednisolona isolada. Já no estudo de Husbands B. *et al* (2004) *cit. por* (Scott-Moncrieff 2014a) o uso de ciclosporina combinada com prednisolona foi avaliado comparativamente ao uso de prednisolona isolada no tratamento da AHIM e não foram encontradas diferenças na taxa de sobrevivência entre os dois protocolos. Contudo a maioria das mortes no protocolo que incluía a ciclosporina ocorreram antes que esta tivesse atingido o seu efeito máximo.

De forma a avaliar a eficácia do tratamento recomenda-se a determinação das concentrações de ciclosporina no sangue, onde a concentração sérica mínima de 400 a 600 ng/ml de ciclosporina é segura e causa uma supressão eficaz do sistema imunitário (Archer et al. 2014; Al-Ghazlat 2009).

Os efeitos adversos da ciclosporina incluem hepatopatia, vômito, diarreia (Wang et al. 2013; Archer et al. 2014) distúrbios gastrointestinais, hiperplasia gengival, papilomatose e predisposição para infeções secundárias como dermatite atópica (Scott-Moncrieff 2014c).

O maior impedimento para o uso de ciclosporina é o seu elevado custo e a necessidade de monitorizações frequentes (Scott-Moncrieff 2014c; Archer et al. 2014).

6.1.4. Ciclofosfamida

A ciclofosfamida é um agente citotóxico que promove a alquilação das ligações cruzadas de ADN, prevenindo a sua separação, exercendo ação tóxica sob as células em repouso e em divisão, principalmente os linfócitos proliferativos (Al-Ghazlat 2009).

A ciclofosfamida suprime a resposta imunitária celular e humoral (Mason et al. 2003; Al-Ghazlat 2009). A resposta imunitária humoral é inibida através da ação tóxica potente da ciclofosfamida sobre os linfócitos B e T, razão pela qual é utilizada no tratamento da AHIM desde 1980 (Mason et al. 2003).

Segundo Scott-Moncrieff (2014a) o uso de ciclofosfamida é reservado a cães com AHIM que não toleram fármacos orais como consequência de vômito persistente ou patologia gastrointestinal associada.

Os dois protocolos de tratamento mais comuns incluem, a administração de 50 mg/m² de ciclofosfamida PO durante 4 dias ou uma dose inicial elevada de 200 mg/m² IV seguida de 50 mg/m²PO durante 3 dias (Burgess et al. 2000; Mason et al. 2003).

Vários estudos indicam que o uso da ciclofosfamida (50 mg/m² PO a cada 24 h durante 4 dias consecutivos durante 4 semanas) em combinação com prednisolona (1 - 2 mg/kg PO a cada 12 h) não apresentou efeitos benéficos quando comparado com o uso de prednisolona isoladamente (1 - 2 mg/kg PO a cada 12 h), podendo ainda estar associado a um aumento da mortalidade (Burgess et al. 2000; Grundy & Barton 2001; Mason et al. 2003; Whitley & Day 2011).

O uso da ciclofosfamida está ainda associado ao aumento da incidência de efeitos adversos graves, tais como cistite hemorrágica (Whitley & Day 2011), mielossupressão (Mason et al.

2003; Whitley & Day 2011) e ainda ao aumento, da necessidade de transfusões sanguíneas repetidas (Mason et al. 2003).

A ciclofosfamida tem sido administrada a cães com doença clínica mais grave, com maior risco de morte, o que pode condicionar os resultados observados nos estudos anteriormente descritos (Reimer et al. 1999; Burgess et al. 2000).

Segundo vários autores, o uso da ciclofosfamida não se justifica como agente imunossupressor, quando se encontram disponíveis outros fármacos (Mason et al. 2003; Whitley & Day 2011; Swann & Skelly 2013) uma vez que a ciclofosfamida não melhora e pode ainda afetar de forma adversa os resultados do tratamento da AHIM canina (Mason et al. 2003).

Outros fármacos que são utilizados no tratamento de cães com AHIM que não respondem aos protocolos anteriormente descritos incluem leflunomida e micofenolato de mofetil. Estes fármacos não têm sido extensivamente avaliados para o tratamento da AHIM e apresentam custos elevados (Scott-Moncrieff 2014a).

6.1.5. Leflunomida

A leflunomida, após ser metabolizada em teriflunomida, inibe a síntese de pirimidinas e de tirosinas quinases envolvidas na diferenciação celular e na transdução do sinal (Scott-Moncrieff 2014c; Singer et al. 2011). Os efeitos do uso da leflunomida traduzem-se na inibição da proliferação dos linfócitos B e T e em efeitos anti-inflamatórios (Scott-Moncrieff 2014c).

As doses recomendadas são de 3 a 4 mg/Kg PO a cada 24 horas, ajustadas sempre que necessário, de forma a obter um nível sérico mínimo de 20 µg/ml (Gregory 2009; Al-Ghazlat 2009).

A leflunomida foi usada pela primeira vez em cães como parte de um protocolo imunossupressor no transplante renal. Atualmente é usada como adjuvante no tratamento de cães que são refratários a fármacos imunossupressores tradicionais e situações em que é contraindicado o uso de glucocorticóides (Scott-Moncrieff 2014c).

Os estudos publicados em relação à leflunomida em cães são limitados, embora existam algumas referências favoráveis ao seu uso na AHIM (Scott-Moncrieff 2014c; Shaw & Harrel 2009).

Os efeitos secundários são reduzidos incluindo vômitos, linfopenia, letargia, anemia ligeira, hematémese e hematoquézia, quando combinada com glucocorticóides (Scott-Moncrieff 2014c; Shaw & Harrel 2009).

O uso da leflunomida em cães apresenta custos elevados, que contudo podem ser diminuídos até 80% pela utilização do genérico do fármaco (Gregory 2009).

6.1.6. Micofenolato de mofetil

O micofenolato de mofetil (MFM) é um fármaco derivado do ácido micofenólico, que inibe a proliferação dos linfócitos B e T e diminui a produção de anticorpos através da inibição da síntese de purinas pela inibição da enzima inosina 5' monofosfato desidrogenase (Scott-Moncrieff 2014a).

A dose de MFM atualmente recomendada é de 10 a 20 mg/kg a cada 12h PO (Miller 2009; Scott-Moncrieff 2014a) e parece ser seguro no tratamento da AHIM canina (Wang et al. 2013).

No estudo retrospectivo de Wang et al. (2013) foram comparados dois protocolos para o tratamento da AHIM. Um dos protocolos incluía o uso de glucocorticóides (dose média de 2,6 mg /Kg/dia PO de prednisona ou fosfato de sódio de dexametasona 0,3 mg/Kg/dia EV) em combinação com MFM (na dose média de 20,5 mg/Kg/dia PO e/ou parenteral) e o outro que incluía o uso de glucocorticóides (dose média de 2,9 mg /Kg/dia PO de prednisona e/ou fosfato de sódio de dexametasona 0,4 mg/Kg/dia EV) em combinação com um único fármaco imunossupressor entre os quais ciclosporina (dose média de 10,6 mg /Kg/dia PO), azatioprina (dose média de 1,9 mg/Kg/dia) ou imunoglobulina endovenosa humana na dose média 0,5 g/kg EV).

Os resultados obtidos mostraram que não houve diferenças significativas na duração da hospitalização, nas taxas de sobrevivência ao dia 30 e ao dia 60 ou no número de transfusões administradas entre os dois protocolos utilizados. A administração de MFM foi ainda associada a menos efeitos adversos, apresentando apenas diarreia transitória num pequeno número de cães.

O uso de MFM como auxiliar no tratamento da AHIM canina apresenta vantagens devido à formulação oral e parenteral, início de ação rápido (2 a 4 horas após administração) poucos efeitos adversos e facilidade no acesso (Langman et al. 1996; Swann & Skelly 2011).

Os efeitos adversos mais comuns do MFM incluem toxicidade gastrointestinal que se pode traduzir em anorexia, hemorragia gastrointestinal e diarreia podendo afetar 67% dos animais (Dewey et al. 2010). Estes efeitos encontram-se relacionados com a dose administrada, mas podem ser minimizados através da diminuição da dose ou da combinação com outro agente imunossupressor (Langman et al. 1996; Gregory 2009; Scott-Moncrieff 2014a).

Imunomoduladores

Embora os glucocorticóides sejam a base do tratamento para AHIM, muitas vezes são necessários agentes imunomoduladores adicionais para um controlo bem-sucedido da doença (Spurlock & Prittie 2011).

6.1.7. Imunoglobulina endovenosa

A imunoglobulina endovenosa humana (IghEv) consiste num preparado de imunoglobulina (Ig), obtido a partir de um *pool* de plasma de um grande número de doadores humanos saudáveis, que contém mais de 90% de IgG intata e biologicamente ativa, quantidades vestigiais de IgA, IgM, CD4, CD8 e moléculas antigénicas de leucócitos humanos (Spurlock & Prittie 2011).

Embora os mecanismos não estejam bem esclarecidos, pensa-se que a administração da IghEv iniba competitivamente a ligação das IgG a células fagocíticas mononucleares pela saturação dos recetores Fc, levando à diminuição da fagocitose dos eritrócitos recobertos por anticorpos. O seu uso parece também ter outros efeitos moduladores da resposta imunológica, embora os mecanismos não estejam bem esclarecidos (Reagan et al. 1998; Scott-Moncrieff & Reagan 1997; Scott-Moncrieff 2014c).

Historicamente, as doses de IghEv em animais eram de 0,5 a 1,5 g/kg, mas estudos recentes descrevem doses compreendidas entre 0,25 e 2,2 g/kg administradas através de uma infusão endovenosa durante 6 a 12 horas, sendo que a dose ideal a administrar é desconhecida (Spurlock & Prittie 2011; Scott-Moncrieff 2014c).

Apesar de terem sido realizados alguns estudos retrospectivos, ainda não foram estabelecidas indicações claras para o uso da IghEv no tratamento da AHIM (Scott-Moncrieff et al. 1997; Kellerman & Bruyette 1997; Grundy & Barton 2001; Gerber et al. 2002; Whelan et al. 2009).

De acordo com Whelan et al. (2009) o uso de IghEv associado a glucocorticóides como parte do tratamento inicial da AHIM canina não mostrou melhorar a sobrevivência no momento da alta hospitalar comparativamente aos cães tratados apenas com glucocorticóides.

O uso da IghEv pode ser útil na estabilização inicial do paciente, devido ao rápido efeito de ação, embora que curto, contrariamente à ação dos fármacos imunossupressores descritos (azatioprina, ciclofosfamida e ciclosporina), que demoram dias a semanas a tornarem-se efetivos. Desta forma a administração de IghEv permite obter tempo, através da supressão da fagocitose, para que os fármacos imunossupressores sejam eficazes, embora os estudos que suportam esta hipótese sejam escassos (Spurlock & Prittie 2011; Scott-Moncrieff 2014c).

Os efeitos secundários mais preocupantes do uso da IghEv incluem um potencial risco de anafilaxia em administrações repetidas e a possibilidade de sensibilização associada à introdução de uma xenoproteína (Spurlock & Prittie 2011; Scott-Moncrieff 2014c).

Outro potencial efeito adverso inclui o aumento do risco de tromboembolismo, que foi observado no estudo de Tsuchiya *et al.* (2009), onde cães saudáveis, submetidos à administração de IghEv promoveram estados pro-inflamatórios e de hipercoagulabilidade. Desta forma o seu uso deve ser ponderado em cães com AHIM ou com outras condições pró-trombóticas (Scott-Moncrieff 2014c).

O uso da IghEv no tratamento da AHIM apresenta algumas limitações que incluem o elevado custo da terapia, a escassez de estudos prospetivos sobre o uso em medicina veterinária e a baixa eficácia no tratamento de outras doenças caninas, como na trombocitopenia imunomediada (Scott-Moncrieff 2014c).

Atualmente, a IghEv é usada como um auxiliar na AHIM, tal como em outras doenças imunomediadas que não respondem aos fármacos imunossupressores convencionais (Scott-Moncrieff et al. 1997; Kellerman & Bruyette 1997; McCullough 2003; Whelan et al. 2009).

6.1.8. Clodronato liposomal

O clodronato liposomal (diclorometileno difosfonato) é um bifosfonato que é preferencialmente fagocitado por macrófagos e células dendríticas levando à posterior apoptose destas células (Whitley & Day 2011).

Um recente estudo mostrou que a administração endovenosa do clodronato liposomal induz a morte dos macrófagos esplênicos caninos e das células dendríticas *in vitro* e promove a diminuição, dependente da dose, da *clearance* dos eritrócitos opsonizados (Mathes et al. 2006).

A administração endovenosa de clodronato liposomal foi bem tolerada e apresentou melhorias na sobrevivência de um pequeno grupo de cães com AHIM que receberam simultaneamente tratamento com outros fármacos imunossupressores, sendo possível a existência de um efeito sinérgico entre a terapia de altas doses de prednisolona e o uso de clodronato liposomal. No entanto não foi possível avaliar isoladamente os efeitos do clodronato liposomal no tratamento da AHIM (Mathes et al. 2006).

O uso do clodronato liposomal pode desempenhar um papel importante na AHIM refratária, através da rápida diminuição da destruição dos eritrócitos permitindo que os outros fármacos imunossupressores se tornem eficazes (Mathes et al. 2006).

6.1.9. Danazol

O danazol é um androgénio sintético que parece desregular a expressão do recetor Fc dos macrófagos, reduzir a ligação dos anticorpos e do complemento à superfície dos eritrócitos, estabilizar as membranas de eritrócitos, alterar a homeostasia das células T e também alterar as concentrações de citoquinas (Miller 1997; Whitley & Day 2011).

O danazol tem sido usado em medicina humana na dose de 5 mg/Kg PO, duas a três vezes ao dia, em doenças imunomediadas no homem (Shaw & Harrel 2009).

O uso do danazol como agente adjuvante aos glucocorticóides na AHIM canina, não tem o seu uso suportado por estudos, não sendo por isso usado de forma rotineira (Whitley & Day 2011).

Os aspetos negativos para o uso do danazol incluem o seu custo, o potencial hepatotóxico e o longo período para início de ação (Whitley & Day 2011), não sendo desta forma recomendado para manter a remissão dos sinais clínicos (Al-Ghazlat 2009).

Esplenectomia

No tratamento da AHIM canina a esplenectomia é considerada uma das últimas opções, sendo recomendada como auxiliar na terapia apenas em cães que não respondam à terapia médica, que necessitem de doses de fármacos elevadas a longo prazo ou que manifestem efeitos graves associados ao tratamento (Scott-Moncrieff 2014c; Shaw & Harrel 2009).

Os efeitos da esplenectomia estão associados à diminuição do número de células fagocíticas mononucleares disponíveis que interferem na remoção dos eritrócitos ligados a anticorpos, embora os benefícios da esplenectomia no tratamento da AHIM não sejam claros (McCullough 2003).

O estudo retrospectivo de (Horgan et al. 2009) mostrou uma resposta clínica positiva da esplenectomia em 10 cães que não responderam à terapia imunossupressora. Embora a interpretação do estudo seja difícil devido ao facto de 5 dos 9 cães que sobreviveram terem sido tratados simultaneamente com glucocorticóides (Scott-Moncrieff 2014c).

A relutância em realizar esplenectomia na AHIM pode ser devido aos riscos de indução incompetência imunitária e predisposição a infeção secundária (Horgan et al. 2009).

6.2. Alívio da hipoxia tecidual

Muitos cães com AHIM aguda e grave necessitam de oxigenoterapia de suporte, mas o seu uso isolado apresenta poucos benefícios (Shaw & Harrel 2009).

Geralmente, a transfusão deve ser considerada quando os cães exibem sinais de hemólise aguda fulminante e anemia grave progressiva como taquicardia, taquipneia, anorexia, letargia ou fraqueza em repouso (Scott-Moncrieff 2014a).

A transfusão de um concentrado de eritrócitos é o ideal, uma vez que no sangue total o componente plasma não é necessário e pode aumentar o risco de reação transfusional (Scott-Moncrieff 2014a).

No estudo de Burgess *et al.* (2000) não foram identificadas reações hemolíticas transfusionais em 90% dos cães que receberam pelo menos uma transfusão sanguínea, maioritariamente de concentrado de eritrócitos. Pelo contrário, observou-se um aumento da sobrevivência, que ocorreu aparentemente nos primeiros dias de tratamento comparativamente com cães onde não foi efetuada a transfusão. A média do tempo de sobrevivência para os cães que receberam 2 transfusões foi de 11 dias, enquanto nos cães onde foi possível realizar uma terceira transfusão a sobrevivência média foi de 318 dias (Burgess et al. 2000).

Uma solução de hemoglobina bovina polimerizada apresenta-se como uma alternativa na transfusão sanguínea em cães com AHIM no caso de indisponibilidade de produtos sanguíneos compatíveis ou em cães com hemólise severa (Grundy & Barton 2001; Weinkle et al. 2005; Piek 2011).

O estudo de Weinkle *et al.* (2005) mostrou efeitos positivos a longo prazo em cães que receberam hemoglobina bovina polimerizada, contrariando o estudo de Grundy & Barton (2001)

em que a hemoglobina bovina polimerizada foi associada a um mau prognóstico com uma substancial taxa de mortalidade.

O uso de transfusão sanguínea em doenças hemolíticas imunomediadas tem sido alvo de alguma controvérsia, uma vez que existe uma grande dificuldade em avaliar os verdadeiros efeitos da transfusão sanguínea na sobrevivência devido ao seu uso simultâneo com a terapia imunossupressora (Burgess et al. 2000; Carr et al. 2002; Weinkle et al. 2005; McAlees 2010), contudo parece não existir nenhuma evidência de que as transfusões sejam contra-indicadas (Piek 2011).

6.3. Prevenção de complicações tromboembólicas

De uma forma geral os fármacos anti-trombóticos ou previnem a formação de trombos arteriais pela ligação a plaquetas, inibindo a sua ação (fármacos anti-agregantes plaquetários) ou previnem a formação de trombos venosos pela inibição da cascata da coagulação (fármacos anti-coagulantes) (Kidd & Mackman 2013).

Os fatores que mais influenciam o desenvolvimento da formação dos trombos são descritos pela tríade de Virchow's que inclui dano endotelial vascular, diminuição no fluxo sanguíneo e hipercoagulabilidade (Balch & Mackin 2007b), mas a patogênese da formação dos trombos é desconhecida, e os protocolos eficazes para a sua profilaxia não foram estabelecidos (Scott-Moncrieff 2014a).

As opções de tratamento atualmente usadas para a prevenção de complicações tromboembólicas incluem fármacos com ação anticoagulante como a heparina não fracionada e heparina de baixo peso molecular e fármacos anti-agregantes plaquetários como a aspirina, clopidogrel ou uma combinação destas modalidades (Scott-Moncrieff 2014a).

Aspirina (Ácido acetilsalicílico)

Apesar de ainda não ter sido identificado um anti-coagulante profilático ideal para a AHIM canina, em humanos há indicação de que a administração de doses baixas de aspirina reduz as taxas de morbidade e mortalidade associadas à doença tromboembólica arterial (Weinkle et al. 2005).

O uso de aspirina em doses baixas é normalmente utilizado como tratamento anti-trombótico padrão na AHIM canina, devido à sua disponibilidade, à baixa de necessidade de monitorização, à facilidade de administração e ao mínimo custo (Mellett et al. 2011).

A dose de aspirina ainda não foi estabelecida, embora seja usada a 0,5 mg/kg/dia PO (Weinkle et al. 2005; Kidd & Mackman 2013).

Altas doses de aspirina devem ser evitadas porque podem provocar lesões entéricas, efeitos renais e hepáticos, juntamente com alteração na agregação plaquetária e diátese hemorrágica, enquanto a administração de doses baixas de aspirina pode minimizar complicações

iatrogénicas, mantendo uma influência moduladora sobre a agregação plaquetária, inibindo a formação de coágulos (Patrono 2001; Weinkle et al. 2005).

O estudo retrospectivo de Weinkle et al. (2005) incluiu cães tratados com uma combinação de glucocorticóides e azatioprina subdivididos em cães submetidos adicionalmente a doses baixas de aspirina, de heparina não fracionada e a uma combinação de ambas. Os resultados mostraram que os cães sujeitos a doses baixas de aspirina apresentavam uma sobrevivência significativamente mais prolongada, comparativamente ao uso de apenas heparina não fracionada.

Um estudo recente mostrou que em cães com AHIM idiopática que receberam doses baixas de aspirina (0,5 mg/kg/dia), 58,6% estavam vivos após 6 meses (Goggs et al. 2012).

Clopidogrel

Clopidogrel (CL) é um fármaco anti-agregante plaquetário recente que inibe irreversivelmente os recetores ADP_{2Y12} que se situam na membrana de plaquetas (Hogan et al. 2004).

O uso de CL na dose única de 10 mg/Kg inibe efetivamente a agregação plaquetária durante 24 horas após a administração e uma posterior dose diária de 2 mg/Kg mantém uma adequada inibição da agregação em cães saudáveis (Mellett et al. 2011).

Segundo Ware (2014) o uso de CL nas doses de 1 a 3 mg/kg/dia PO produz efeitos anti-agregantes plaquetários máximos dentro de 3 dias em cães, com o pico de concentração do metabolito ativo cerca de 1h após administração e com efeitos vestigiais durante 7 dias após a suspensão do CL.

No estudo randomizado de Mellett et al. (2011), um pequeno grupo de cães com AHIM primária capaz de tolerar medicação oral e sujeitos a terapia imunossupressora padrão, mostrou que a terapia com CL isolado ou em combinação com uso de aspirina em doses baixas foi seguro e apresentou uma taxa de sobrevivência a curto prazo similar comparativamente ao uso de doses baixas de aspirina isoladas. Segundo Mellett *et al.* (2011) o uso de CL pode representar um recurso alternativo seguro e igualmente eficaz na prevenção da coagulação em cães que não toleram a aspirina, mas são necessários estudos adicionais antes de ser incluído nas recomendações de tratamento (Swann & Skelly 2013).

Heparina

A heparina é indicada para limitar a extensão de trombos existentes e evitar a ocorrência de novos episódios tromboembólicos, embora não promova a trombólise (Ware 2014).

O principal efeito anticoagulante da heparina é produzido através da ativação da anti-trombina, que por sua vez inibe fatores IX, X, XI e XII e a trombina. Estimula ainda inibidores do fator tecidual (fator VII) a partir de locais vasculares, o que ajuda a reduzir a via extrínseca da cascata da coagulação (Ware 2014).

A heparina encontra-se disponível na forma de heparina não fracionada e de baixo peso molecular. A heparina não fracionada é geralmente administrada inicialmente num *bolus* de 200 - 300 UI/kg/Ev seguida de administrações subcutâneas na dose 200 - 250 UI/kg a cada 6 a 8h durante 2 a 4 dias ou quando necessário (Ware 2014; Thompson et al. 2004).

A monitorização do TTPA tem sido recomendada embora os resultados não possam prever com precisão as concentrações séricas de heparina. A monitorização da atividade anti-Xa pode ser um meio mais exato de avaliar terapia com heparina (Ware 2014). Contudo a heparina não fracionada não tem mostrado efeitos na redução da incidência de tromboembolismo pulmonar em cães com AHIM (Balch & Mackin 2007b).

A heparina de baixo peso molecular (enoxaparina e dalteparina) é uma alternativa à heparina não fracionada, que começa a ser usada em medicina veterinária no tratamento de patologias tromboembólicas (Shaw & Harrel 2009). A heparina de baixo peso molecular apresenta maior biodisponibilidade e um tempo de semi-vida mais longo comparativamente à heparina não fracionada, quando administrada por via subcutânea, devido à ligação inferior às proteínas plasmáticas, bem como a células endoteliais e macrófagos e ainda permite uma inibição mais eficaz do fator-Xa comparativamente à heparina não fracionada (Shaw & Harrel 2009).

O seu tamanho reduzido impede a ligação simultânea à trombina e anti-trombina, o que lhe confere menos probabilidade de causar hemorragia. A heparina de baixo peso molecular não afeta significativamente os tempos de coagulação, pelo que o acompanhamento do TTPA, geralmente não é necessário, podendo ser monitorizado indiretamente pela atividade anti-Xa (Ware 2014).

Segundo Breuhl et al. (2009), devido às diferenças na farmacocinética da heparina em cães saudáveis e doentes é difícil estabelecer a dose de heparina a administrar. As doses comumente usadas de dalteparina e enoxaparina foram extrapoladas de uso humano, e são 100 - 150 U/kg SC a cada 8 a 12h e 1 - 1.5 mg/kg SC a cada 6 a 12h, respetivamente (Ware 2014).

Embora seja utilizada como terapia adjuvante, não existem evidências de que a heparina seja efetiva no tratamento da AHIM (Mathes et al. 2006; Whelan et al. 2009), não tendo sido associada a um aumento do tempo de sobrevivência (Burgess et al. 2000; Weinkle et al. 2005). Os protocolos de doses fixas de heparina mostram-se inadequados, devido a diferenças na ligação às proteínas, ao consumo e a excreção da molécula de heparina (Bryan E. Harnett & Marie E. Kerl, 2007).

Um estudo recente randomizado sugere que o tratamento com altas doses de heparina não fracionada ajustadas individualmente baseadas na atividade anti-Xa plasmática, pode ser um método seguro e eficaz no aumento da sobrevivência dos cães com AHIM e que doses constantes baixas de heparina (150 U/kg SC cada 6 a 8h) não parecem ser eficazes e podem afetar negativamente o resultado (Helmond et al. 2010).

6.4. Terapia de suporte

Uma terapia de suporte agressiva é fundamental para um bom resultado em cães com AHIM. A fluidoterapia deve ser administrada em cães com evidência de desidratação, de forma a melhorar a perfusão tecidual (Scott-Moncrieff 2014a) e naqueles que apresentam hemólise intravascular para prevenir a lesão renal hemoglobinúrica (Shaw & Harrel 2009).

A colocação de um cateter venoso periférico pode ser preferível à localização jugular, em pacientes predispostos a desenvolver uma coagulopatia, ou tromboembolismo (Shaw & Harrel 2009).

De forma a minimizar os efeitos secundários dos fármacos imunossupressores podem ser administrados protetores gastrointestinais. Como sucralfato, bloqueadores H₂ (ex. famotidina) e inibidores da bomba de prótons (ex omeprazol) (Scott-Moncrieff 2014a).

7. PROGNÓSTICO

Fatores que clinicamente parecem conferir um bom prognóstico em cães com AHIM incluem a presença de esferócitos (Piek et al. 2008), uma resposta rápida ao tratamento isolado com glucocorticóide, capacidade de manter o hematócrito acima de 30% e a identificação de uma causa secundária tratável (Scott-Moncrieff 2014a).

Os indicadores de mau prognóstico incluem aumento das concentrações de ureia, aumento de neutrófilos em banda, presença de petéquias, trombocitopenia, hiperbilirrubinemia bem como a presença de auto-aglutinação persistente, leucocitose acentuada, e aumento do tempo de protrombina (Reimer et al. 1999; Carr et al. 2002; Mason et al. 2003; Weinkle et al. 2005; Piek et al. 2008).

A gravidade da anemia tem sido associada a um mau prognóstico (Klag et al. 1993), mas estudos recentes contrariam este facto (Burgess et al. 2000; Weinkle et al. 2005; McManus & Craig 2001; Piek et al. 2008).

De acordo com Piek et al. (2008), a presença de leucocitose com o desvio à esquerda encontra-se provavelmente mais associada ao risco de morte do que a magnitude da resposta leucocitária.

O risco de morte apresenta-se mais elevado durante as primeiras 2 semanas após o diagnóstico, associado principalmente a complicações tromboembólicas que ocorrem em 29% a 80% dos casos (Carr et al. 2002). As consequências da resposta inflamatória continuam a exercer influência na sobrevivência dos cães após as 2 semanas (Reimer et al. 1999; Mason et al. 2003; Piek et al. 2008; Piek et al. 2011).

Outros fatores associados ao aumento do risco de mortalidade incluem CID, insuficiência hepática e renal, e a hipóxia tecidual devido à anemia severa (McManus & Craig 2001; Piek et al. 2008).

A sobrevivência aos 6 meses para cães que sobreviveram nas primeiras duas semanas de tratamento foi de 92,5% (Piek et al. 2008).

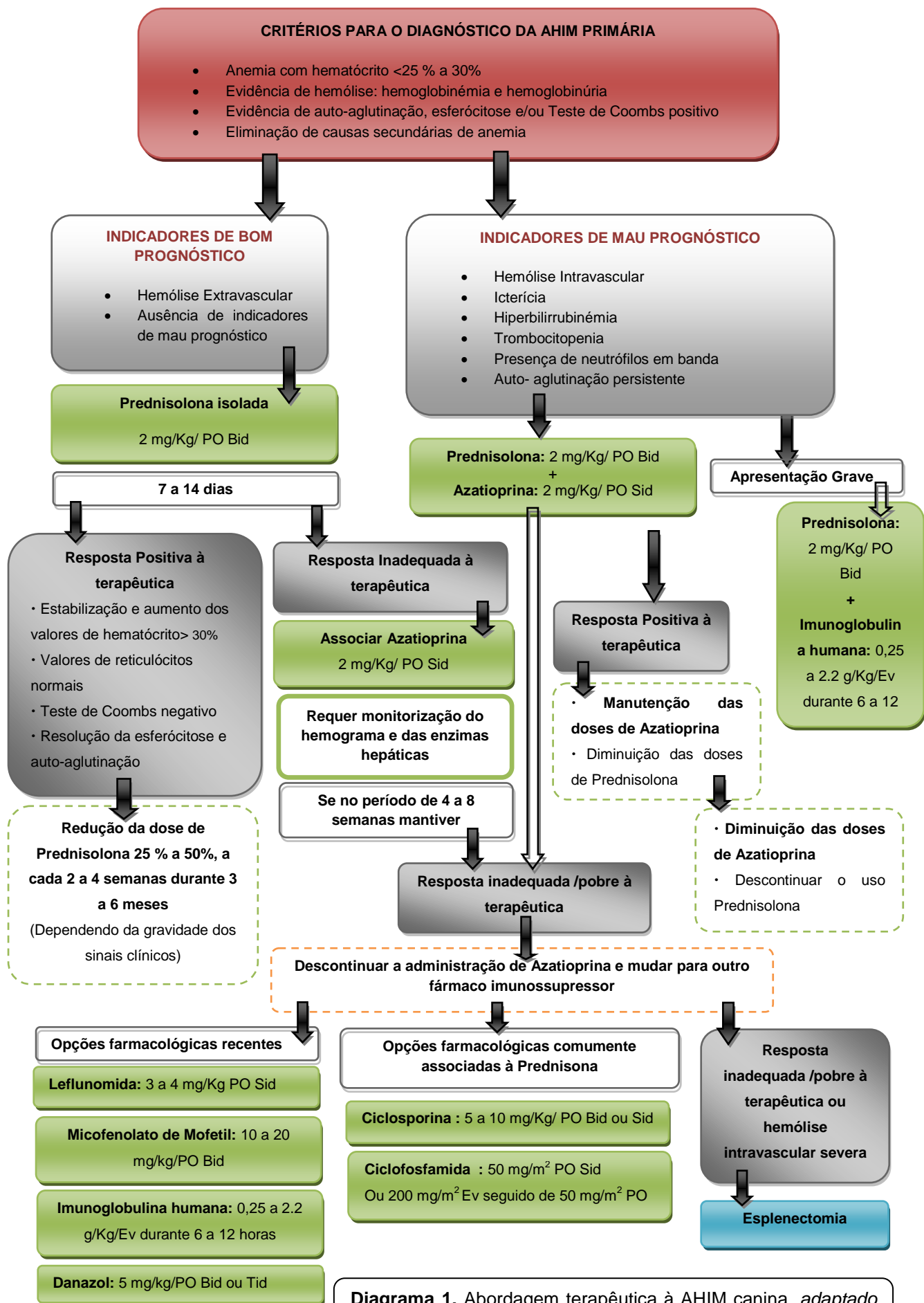


Diagrama 1. Abordagem terapêutica à AHIM canina, adaptado de Scott-Moncrieff (2014a)

8. CONCLUSÃO

Apesar de os primeiros casos descritos da AHIM na medicina veterinária terem sido publicados em 1970, a AHIM canina continua a ter um mau prognóstico e está associada a elevadas taxas de mortalidade (McCullough 2003).

São muitos os estudos publicados sobre AHIM canina mas os resultados obtidos relativamente à eficácia do tratamento e sobrevivência têm sido difíceis de comparar, devido ao número reduzido da amostra dos animais em estudo, à variedade nos grupos em estudo, ao uso de vários protocolos utilizados e à falta de acompanhamento dos cães a longo prazo (Burgess et al. 2000; Grundy & Barton 2001; Weinkle et al. 2005; Piek et al. 2008; Piek 2011; Swann & Skelly 2013).

Devido à incidência relativamente baixa da AHIM, a realização de estudos multicêntricos constituem a melhor maneira de obter um número suficiente de pacientes para estudar os efeitos dos fármacos. Contudo, é necessário padronizar previamente os critérios de inclusão e exclusão e os aspetos metodológicos de forma a obter protocolos de tratamento consistentes, que levam em conta o tratamento a longo prazo permitindo adequar as respostas às recaídas (Piek et al. 2011; Swann & Skelly 2013).

Os fármacos recentemente utilizados no tratamento da AHIM canina mostram-se promissores mas carecem de estudos para avaliar a sua eficácia na introdução de forma precoce nos protocolos imunossuppressores, e de forma a minimizar os efeitos secundários associados à terapia.

9. **BIBLIOGRAFIA**

- Al-Ghazlat, S., 2009. Immunosuppressive therapy for canine immune-mediated hemolytic anemia. *Compendium (Yardley, PA)*, 31(1), pp.33–41, 44;
- Archer, T.M. et al., 2014. Oral cyclosporine treatment in dogs: a review of the literature. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 28(1), pp.1–20.
- Balch, A. & Mackin, A., 2007a. Canine immune-mediated hemolytic anemia: pathophysiology, clinical signs, and diagnosis. *Compendium (Yardley, PA)*, 29(4), pp.217–25.
- Balch, A. & Mackin, A., 2007b. Canine immune-mediated hemolytic anemia: treatment and prognosis. *Compendium (Yardley, PA)*, 29(4), pp.230–8;
- Barker, R.N. et al., 1991. Identification of autoantigens in canine autoimmune haemolytic anaemia. *Clinical and experimental immunology*, 85(1), pp.33–40.
- Breuhl, E.L. et al., 2009. A prospective study of unfractionated heparin therapy in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 45(3), pp.125–33.
- Bryan E. Harnett, D. & Marie E. Kerl, DVM, DACVIM, D., 2007. Unfractionated and low-molecular-weight heparin for hypercoagulability in dogs and cats. *Veterinary Medicine*.
- Burgess, K. et al., 2000. Treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs with cyclophosphamide. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 14(4), pp.456–62.
- Carr, A.P., Panciera, D.L. & Kidd, L., 2002. Prognostic factors for mortality and thromboembolism in canine immune-mediated hemolytic anemia: a retrospective study of 72 dogs. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 16(5), pp.504–9.
- Cohn, L.A., 2009. Acute Hemolytic Disorders. In *Small Animal Critical Care Medicine*. Saunders, Elsevier, pp. 526 –527.
- Couto, C.G., 2014. Hematology. In R. W. Nelson & C. G. Couto, eds. *Small Internal Medicine*. PA: Elsevier, pp. 1207–1212.
- Day, M.J., 1999. Antigen specificity in canine autoimmune haemolytic anaemia. *Veterinary immunology and immunopathology*, 69(2-4), pp.215–24.

- Dewey, C.W. et al., 2010. Mycophenolate mofetil treatment in dogs with serologically diagnosed acquired myasthenia gravis: 27 cases (1999-2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(6), pp.664–8.
- Duffy, A.L. et al., 2010. Serum concentrations of monocyte chemoattractant protein-1 in healthy and critically ill dogs. *Veterinary clinical pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology*, 39(3), pp.302–5.
- Duval, D. & Giger, U., 1996. Vaccine-associated immune-mediated hemolytic anemia in the dog. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 10(5), pp.290–5.
- Flint, S.K. et al., 2011. Independent and combined effects of prednisone and acetylsalicylic acid on thromboelastography variables in healthy dogs. *American journal of veterinary research*, 72(10), pp.1325–32.
- Frank, M.M., 1977. Pathophysiology of Immune Hemolytic Anemia. *Annals of Internal Medicine*, 87(2), pp.210–222.
- Gerber, B. et al., 2002. [Use of human intravenous immunoglobulin in dogs with primary immune mediated hemolytic anemia]. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 144(4), pp.180–5.
- Goggs, R. et al., 2012. Serial assessment of the coagulation status of dogs with immune-mediated haemolytic anaemia using thromboelastography. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 191(3), pp.347–53.
- Gregory, C.R., 2009. Immunosuppressive Agents. In J. D. Bonagura & D. C. Twedt, eds. *KIRK'S Current Veterinary Therapy XIV*. Saunders, Elsevier, pp. 254–259.
- Grundy, S. a & Barton, C., 2001. Influence of drug treatment on survival of dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 88 cases (1989-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(4), pp.543–6.
- Hackner, S.G., 2007. Haematological emergencies. In L. G. King & A. Boag, eds. *BSAVA Manual of Canine and Feline Emergency and Critical Care*. pp. 192–205.
- Helmond, S.E. et al., 2010. Treatment of immune-mediated hemolytic anemia with individually adjusted heparin dosing in dogs. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 24(3), pp.597–605.

- Hogan, D.F. et al., 2004. Antiplatelet effects and pharmacodynamics of clopidogrel in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225(9), pp.1406–11.
- Horgan, J.E., Roberts, B.K. & Schermerhorn, T., 2009. Splenectomy as an adjunctive treatment for dogs with immune-mediated hemolytic anemia: ten cases (2003-2006). *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. : 2001)*, 19(3), pp.254–61.
- Jackson, M.L. & Kruth, S.A., 1985. Immune-mediated Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia in the Dog : A retrospective study of 55 cases diagnosed from 1969 through 1983 at the Western College of Veterinary Medicine. , pp.245–250.
- Jacobs, R.M., Murtaugh, R.J. & Crocker, D.B., 1984. Use of a microtiter Coombs' test for study of age, gender, and breed distributions in immunohemolytic anemia of the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 185(1), pp.66–9.
- Kellerman, D.L. & Bruyette, D.S., 1997. Intravenous human immunoglobulin for the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in 13 dogs. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 11(6), pp.327–32.
- Kennedy, L.J. et al., 2006. Association of a common dog leucocyte antigen class II haplotype with canine primary immune-mediated haemolytic anaemia. *Tissue antigens*, 68(6), pp.502–8.
- Kidd, L. & Mackman, N., 2013. Prothrombotic mechanisms and anticoagulant therapy in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. : 2001)*, 23(1), pp.3–13.
- Kjelgaard-Hansen, M. et al., 2011. Use of serum concentrations of interleukin-18 and monocyte chemoattractant protein-1 as prognostic indicators in primary immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 25(1), pp.76–82.
- Klag, A.R., Giger, U. & Shofer, F.S., 1993. Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986-1990). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 202(5), pp.783–8.
- Langman, L.J. et al., 1996. Pharmacodynamic assessment of mycophenolic acid-induced immunosuppression by measurement of inosine monophosphate dehydrogenase activity in a canine model. *Transplantation*, 61(1), pp.87–92.

- Lobetti, R.G. & Schoeman, T., 2001. Immune-mediated haemolytic anaemia: possible association with *Ancylostoma caninum* infection in three dogs. *Journal of the South African Veterinary Association*, 72(1), pp.52–4.
- Mason, N. et al., 2003. Cyclophosphamide exerts no beneficial effect over prednisone alone in the initial treatment of acute immune-mediated hemolytic anemia in dogs: a randomized controlled clinical trial. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 17(2), pp.206–12.
- Mathes, M., Jordan, M. & Dow, S., 2006. Evaluation of liposomal clodronate in experimental spontaneous autoimmune hemolytic anemia in dogs. *Experimental hematology*, 34(10), pp.1393–402.
- McAlees, T.J., 2010. Immune-mediated haemolytic anaemia in 110 dogs in Victoria, Australia. *Australian veterinary journal*, 88(1-2), pp.25–8.
- McCullough, S., 2003. Immune-mediated hemolytic anemia: understanding the nemesis. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 33(6), pp.1295–315.
- McManus, P.M. & Craig, L.E., 2001. Correlation between leukocytosis and necropsy findings in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 34 cases (1994-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(8), pp.1308–13.
- Mellet, A.M., Nakamura, R.K. & Bianco, D., 2011. A Prospective Study of Clopidogrel Therapy in Dogs with Primary Immune-Mediated Hemolytic Anemia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(1), pp.71–75.
- Miller, E., 2009. Immune-Mediated Hemolytic Anemia. In J. D. Bonagura & D. C. Twedt, eds. *KIRK'S Current Veterinary Therapy XIV*. Saunders, Elsevier, pp. 266–271.
- Miller, E., 1997. The use of danazol in the therapy of immune-mediated disease of dogs. *Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal)*, 12(3), pp.167–9.
- Mitchell, K.D. et al., 2009. Serum acute phase protein concentrations in dogs with autoimmune hemolytic anemia. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 23(3), pp.585–91.
- Morley, P. et al., 2008. Anti-erythrocyte antibodies and disease associations in anemic and nonanemic dogs. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 22(4), pp.886–92.

- Nassiri, S.M. et al., 2005. The investigation of the prevalence of immune-mediated hemolytic anemia (IMHA) in anemic dogs referred to the Veterinary Teaching Hospital of the University of Tehran. *Comparative Clinical Pathology*, 14(3), pp.121–124.
- Overmann, J. a et al., 2007. Performance of 2 microtiter canine Coombs' tests. *Veterinary clinical pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology*, 36(2), pp.179–83.
- Patrono, C., 2001. Aspirin: new cardiovascular uses for an old drug. *The American journal of medicine*, 110(1A), p.62S–65S.
- Piek, C.J., 2011. Canine idiopathic immune-mediated haemolytic anaemia: a review with recommendations for future research. *Veterinary Quarterly*, 31(3), pp.129–141.
- Piek, C.J. et al., 2008. Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: treatment outcome and prognostic factors in 149 dogs. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 22(2), pp.366–73.
- Piek, C.J. et al., 2011. Lack of evidence of a beneficial effect of azathioprine in dogs treated with prednisolone for idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: a retrospective cohort study. *BMC veterinary research*, 7, p.15.
- Reagan, W.J. et al., 1998. Effects of human intravenous immunoglobulin on canine monocytes and lymphocytes. *American journal of veterinary research*, 59(12), pp.1568–74.
- Reimer, M.E., Troy, G.C. & Warnick, L.D., 1999. Immune-mediated hemolytic anemia: 70 cases (1988-1996). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 35(5), pp.384–91.
- Scott-Moncrieff, J.C. et al., 2001. Hemostatic abnormalities in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 37(3), pp.220–7.
- Scott-Moncrieff, J.C. et al., 1997. Intravenous administration of human immune globulin in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 210(11), pp.1623–7.
- Scott-Moncrieff, J.C. & Reagan, W.J., 1997. Human intravenous immunoglobulin therapy. *Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal)*, 12(3), pp.178–85.
- Scott-Moncrieff, J.C.R., 2014a. Common Immune-mediated Diseases. In R. W. Nelson & C. G. Couto, eds. *Small Animal Internal Medicine*. PA: Elsevier, pp. 1417– 1424.
- Scott-Moncrieff, J.C.R., 2014b. Diagnostic Testing for Immune-Mediated Disease. In R. W. Nelson & C. G. Couto, eds. *Small Animal Internal Medicine*. PA: Elsevier, pp. 1402–1406.

- Scott-Moncrieff, J.C.R., 2014c. Treatment of Primary Immune-Mediated Diseases. In R. W. Nelson & C. G. Couto, eds. *Small Animal Internal Medicine*. PA: Elsevier, pp. 1407–1416.
- Semple, J.W. & Freedman, J., 2005. Autoimmune Pathogenesis and Autoimmune Hemolytic Anemia. *Seminars in Hematology*, 42(3), pp.122–130.
- Shaw, N. & Harrel, K., 2009. IMHA: diagnóstico e tratamento de uma doença complexa. *Veterinary Medicine*, pp.63 – 82.
- Singer, L.M. et al., 2011. Leflunomide pharmacokinetics after single oral administration to dogs. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 34(6), pp.609–11.
- Sinnott, V.B. & Otto, C.M., 2009. Use of thromboelastography in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 39 cases (2000-2008). *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. : 2001)*, 19(5), pp.484–8.
- Sokol, R.J., Hewitt, S. & Stamps, B.K., 1981. Autoimmune haemolysis: an 18-year study of 865 cases referred to a regional transfusion centre. *British medical journal (Clinical research ed.)*, 282(6281), pp.2023–7.
- Spurlock, N.K. & Prittie, J.E., 2011. A review of current indications, adverse effects, and administration recommendations for intravenous immunoglobulin. *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. : 2001)*, 21(5), pp.471–83.
- Swann, J.W. & Skelly, B.J., 2011. Evaluation of immunosuppressive regimens for immune-mediated haemolytic anaemia: a retrospective study of 42 dogs. *The Journal of small animal practice*, 52(7), pp.353–8.
- Swann, J.W. & Skelly, B.J., 2013. Systematic review of evidence relating to the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 27(1), pp.1–9.
- Tan, E. et al., 2012. Potentially antigenic RBC membrane proteins in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Veterinary clinical pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology*, 41(1), pp.45–55.
- Thompson, M.F., Scott-Moncrieff, J.C. & Brooks, M.B., 2004. Effect of a single plasma transfusion on thromboembolism in 13 dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 40(6), pp.446–54.

- Tsuchiya, R. et al., 2009. Prothrombotic and inflammatory effects of intravenous administration of human immunoglobulin G in dogs. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 23(6), pp.1164–9.
- Valenciano, A.C. et al., 2014. *Atlas of canine and feline peripheral blood smears* First Edit. D. B. DeNicola, ed., Philadelphia, PA: Elsevier.
- Wang, a, Smith, J.R. & Creevy, K.E., 2013. Treatment of canine idiopathic immune-mediated haemolytic anaemia with mycophenolate mofetil and glucocorticoids: 30 cases (2007 to 2011). *The Journal of small animal practice*, 54(8), pp.399–404.
- Ware, W.A., 2014. Thromboembolic disease. In R. W. Nelson & C. G. Couto, eds. *Small Animal Internal Medicine*. PA: Elsevier, pp. 199–210.
- Warman, S.M. et al., 2008. Pattern of Coombs' test reactivity has diagnostic significance in dogs with immune-mediated haemolytic anaemia. *The Journal of small animal practice*, 49(10), pp.525–30.
- Weinkle, T.K. et al., 2005. Evaluation of prognostic factors, survival rates, and treatment protocols for immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 151 cases (1993-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(11), pp.1869–80.
- Whelan, M.F. et al., 2009. Use of human immunoglobulin in addition to glucocorticoids for the initial treatment of dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. : 2001)*, 19(2), pp.158–64.
- Whitley, N.T. & Day, M.J., 2011. Immunomodulatory drugs and their application to the management of canine immune-mediated disease. *The Journal of small animal practice*, 52(2), pp.70–85.